

Metodología para la determinación del sexo fenotípico y la obtención de poblaciones de reproductores del mugílido *Chelon labrosus* durante la época de reposo sexual

J.A. Martos-Sitcha^{1,2}, C. Burgos³, V. de las Heras³, J.A. Calderón³ y G. Martínez-Rodríguez¹

¹ Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC), Avda. República Saharaui S/N, Puerto Real 11510, Cádiz. E-mail: juanantonio.sitcha@uca.es

² Depto. Biología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Univ. Cádiz, Puerto Real 11510, Cádiz.

³ C.I.F.P. Marítimo Zaporito, Paseo de la Magdalena S/N, San Fernando 11100, Cádiz.

Abstract

The aim of this study was to obtain a basic methodology for sex determination and implementation of spawning stocks for the thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) during the non maturation period. Animals were maintained in 5 m³ tanks in the C.I.F.P. Marítimo Zaporito facilities in San Fernando (Cádiz) under natural conditions of photoperiod and constant temperature (19-20°C). A total of 39 animals were marked with pit-tags, a biopsy from the gonad was taken through the gonad pore using a plastic cannula, and they were bled for obtaining plasma samples to measure both 11-ketotestosterone (11-KT) and estradiol (E2). On one hand, the results from biopsies did not provide reliable information. On the other hand, sexual hormones data showed a clear differentiation between both sexes, having the males larger amounts of 11-KT respect to E2 and vice versa for females, despite the low levels of both hormones in plasma respect to the breeding period. The method was validated by sexing a control group during the breeding period.

Justificación

La liseta (*Chelon labrosus*) es una especie que aparece de manera natural en los esteros de la región suratlántica de España durante los despesques de otras especies como la dorada o la lubina. Dadas sus características omnívoras (Drake y Arias, 1984), esta especie presenta un buen potencial para paliar la presión existente sobre los grandes consumos de piensos procedentes de harinas y aceites de pescado, originados en la pesca extractiva, así como para diversificar las actuales especies cultivadas. El objetivo de este trabajo es poner a punto una metodología básica para la determinación del sexo y la obtención de poblaciones de reproductores de la especie con proporciones de sexos balanceadas, fuera de la época reproductiva, de modo que los animales sean menos sensibles a la manipulación por estrés. Para ello se estudiaron las hormonas sexuales típicas de machos (11-cetotestosterona, 11-KT) y hembras (estradiol, E2) (Patiño y Schreck, 1986).

Material y Métodos

El experimento se realizó en dos fases diferentes, partiendo de una población de 31 individuos de entre 600-1700 gramos de *C. labrosus* mantenida en un tanque de las instalaciones del C.I.F.P. Marítimo Zaporito en San Fernando (Cádiz). La primera fase se llevó a cabo durante la época de madurez sexual (febrero-marzo de 2011), en la que 8 individuos “control” fueron marcados con marcas electrónicas, determinándose el sexo de los ejemplares mediante masaje abdominal y distinguiéndose la presencia de ejemplares fluyentes (machos) frente a los que no eran fluyentes, poseían la zona ventral hinchada y endurecida, y el poro genital dilatado (hembras). La segunda fase consistió en el marcado de los 23 ejemplares objeto de estudio y la obtención de plasma sanguíneo, tanto de estos como de los del grupo “control”, durante el periodo de post-puesta y reposo sexual (julio), en los que no existían flujo de esperma mediante masaje abdominal, ni zona ventral desarrollada aparente. Además, se obtuvieron biopsias de todos los animales mediante una cánula, así como datos biométricos de peso y talla. Las biopsias fueron montadas sobre portaobjetos de vidrio y observadas al microscopio bajo contraste de fase. Por su parte, las muestras de plasma fueron tratadas para la extracción de todos los esteroides presentes y su posterior análisis mediante la técnica ELISA, según lo descrito por Rodríguez et al. (2000).

Resultados y Discusión

Con las muestras obtenidas mediante biopsia no fue posible determinar el sexo de cada uno de los ejemplares debido a la imposibilidad de diferenciar de forma segura y exacta la presencia de oogonias o espermatogonias o estadios más avanzados. En cambio, mediante los análisis de concentración de ambas hormonas sexuales por la técnica de ELISA, sí que fue posible la determinación del sexo de todos los

animales, existiendo un claro patrón de predominancia del E2 para el caso de las hembras y de la 11-KT para el de los machos (Fig. 1A). Así, con los 8 ejemplares control se estableció que una relación entre ambas hormonas (Fig. 1B) $11\text{-KT}/\text{E2} \geq 1$ correspondía a ejemplares machos, y una relación $11\text{-KT}/\text{E2} < 1$ a hembras.

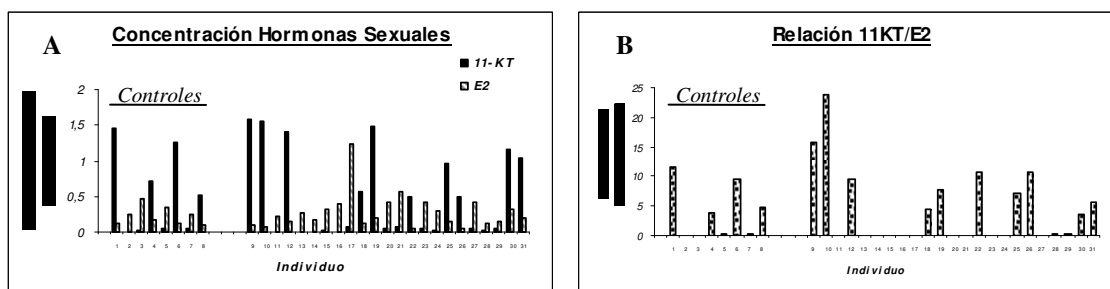


Figura 1. Niveles de hormonas sexuales en plasma (A) y relación 11-KT/E2 (B) para cada uno de los ejemplares analizados. Los animales 1-8 corresponden al grupo control analizado durante el periodo de madurez sexual.

Las concentraciones de ambas hormonas en la liseta (11-KT: $1,05 \pm 0,11$ ng/mL de plasma; E2: $0,37 \pm 0,06$ ng/mL de plasma) se encuentran dentro del mismo rango con lo descrito para otras especies, como el mugílido *Mugil cephalus* (Aizen et al., 2005), el parracho (Hachero-Cruzado et al., 2007) o la lubina (Bayarri et al., 2009) durante el periodo de reposo sexual. De la comparación entre los datos hormonales y los datos biométricos se obtuvo que los ejemplares de mayor peso (1050 a 1650 g) son hembras, frente a los machos que presentan un peso menor (650 a 1100 gs). Estos resultados demuestran que es posible la preparación de poblaciones de machos y hembras durante la época de reposo sexual para su aclimatación temprana a las condiciones de puesta del siguiente periodo, evitando el estrés del manejo a los animales durante la época de maduración y puesta.

Bibliografía

- Aizen, J., I. Meiri, I. Tzchori, B. Levavi-Sivan y H. Rosenfel. 2005. Enhancing spawning in the grey Mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. *General and Comparative Endocrinology*. **142**, 212-221.
- Bayarri, M.J., S. Zanuy, O. Yilmaz y M. Carillo. 2009. Effects of continuous light on the reproductive system of European Sea Bass gauged by alterations of circadian variations during their first reproductive cycle. *Chronobiology International*. **26** (2), 184-199.
- Drake, P., y A.M. Arias. 1984. Biología de los Mugílidos (Osteichthyes, Mugilidae) en los esteros de las Salinas de San Fernando (Cádiz). III. Hábitos alimentarios y su relación con la morfometría del aparato digestivo. *Investigaciones Pesqueras*. **48** (2), 337-367.
- Hachero-Cruzado, I., A. García-López, M. Herrera, L. Vargas-Chacoff, G. Martínez-Rodríguez, J.M. Mancera y J.I. Navas. 2007. Reproductive performance and seasonal plasma sex steroid and metabolite levels in a captive wild broodstock of brill *Scophthalmus rhombus* L. *Aquaculture Research*. **8**, 1161-1174.
- Patiño R. y C.B. Schreck. 1986. Sexual dimorphism of plasma sex steroid levels in juvenis Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification. *General and Comparative Endocrinology*. **61**, 127-133.
- Rodríguez, L., I. Begtashi, S. Zanuy y M. Carrillo. 2000. Development and validation of an enzyme immunoassay for testosterone: Effects of photoperiod on plasma testosterone levels and gonadal development in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) at puberty. *Fish Physiology and Biochemistry*. **23**, 141-150.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los alumnos del C.I.F.P Marítimo Zaporito (San Fernando, Cádiz) de los Ciclos Formativos de Grado Medio en *Operaciones de Cultivo Acuicola* y Grado Superior en *Producción Acuicola* su colaboración y apoyo técnico prestado en el mantenimiento y muestreo de los animales, a Dña. María Francisca Osta Fort por la preparación del material necesario para los análisis de esteroides sexuales en el laboratorio y al Prof. Juan Miguel Mancera Romero por comentarios sobre el manuscrito. JAM-S está financiado por una beca predoctoral de Formación de Profesorado Universitario (FPU, Referencia AP2008-01194) del Ministerio de Educación.